

表7 2事例以上の分離株で一致したIS型—VT2産生株

IS型	事例番号	発症日 ^{a)}	性別	年齢	血清型	毒素型	PFGE型	
013055 214443	散発	30	7.7	F	20	O157:H7	2	d68
	散発	31	7.12	M	29	O157:H7	2	d68
	グループ 3		7.14	M	38	O157:H7	2	d68
			(7.24)	F	4	O157:H7	2	d144 ^{b)}
	グループ 4		(8.5)	F	4	O157:H7	2	d68
			7.25	M	8	O157:H7	2	d68
	グループ 5		(8.4)	M	47	O157:H7	2	d68
			8.21	F	7	O157:H7	2	d68
	散発		8.18	F	4	O157:H7	2	d367 ^{b)}
			8.9	F	29	O157:H7	2	d68
	散発	43	7.29	F	27	O157:H7	2	d68
	散発	60	8.20	F	78	O157:H7	2	d68
	012057 214443	散発	10	5.7	M	24	O157:H7	2
散発		23	(7.7)	M	31	O157:H7	2	c614
グループ 7			7.20	F	5	O157:H7	2	d143
散発		37	(8.20)	M	21	O157:H7	2	d258
散発		48	8.30	F	53	O157:H7	2	d370
345457 311652	散発	13	6.13	M	4	O157:H7	2	c57
	散発	32	8.4	M	25	O157:H7	2	c57
	散発	46	8.25	F	25	O157:H7	2	c57
	散発	50	9.2	M	7	O157:H7	2	c57
	散発	65	10.3	M	72	O157:H7	2	c374
114057 303443	散発	29	(8.2)	F	68	O157:H7	2	d133
	グループ 9		8.21	M	0	O157:H7	2	d351
			(8.28)	F	33	O157:H7	2	d351
			(8.31)	F	78	O157:H7	2	d351
215457 605243	散発	38	8.17	M	5	O157:H7	2	d257
	グループ 10		(9.3)	M	33	O157:H7	2	d257
			(9.5)	F	34	O157:H7	2	d366 ^{c)}
105057 303443	グループ 11		(9.30)	F	18	O157:H7	2	d503
			(9.30)	F	17	O157:H7	2	d503
	散発	69	(11.10)	M	24	O157:H7	2	c796
012055 214443	散発	57	9.3	M	35	O157:H7	2	d372
	散発	62	9.16	M	6	O157:H7	2	d492
145047 303443	散発	5	(4.3)	F	21	O157:H7	2	c597
	散発	68	(11.11)	M	17	O157:H7	2	d721
155047 303443	散発	44	(8.26)	F	33	O157:H7	2	d508
	散発	66	(10.15)	M	34	O157:H7	2	d716
305457 611642	散発	41	(8.14)	M	36	O157:H7	2	d259
	散発	52	9.6	F	10	O157:H7	2	d509

a) カッコ内は無症状保菌者の検体採取日

b) d68と1本異なる

c) d257と1本異なる

表8 2事例以上の分離株で一致したIS型-VT1,VT2産生株

IS型	事例番号	発症日 ^{a)}	性別	年齢	血清型	毒素型	PFGE型
717557 611657	散发	18	7.2	M	8	O157:H7	1+2 d140
	グループ 2		7.5	M	3	O157:H7	1+2 d140
			7.5	F	6	O157:H7	1+2 d140
			(7.10)	M	7	O157:H7	1+2 d140
			7.11	F	4	O157:H7	1+2 d140
	散发	33	8.6	F	10	O157:H7	1+2 d92
	散发	49	8.30	M	22	O157:H7	1+2 d92
	散发	54	9.8	F	12	O157:H7	1+2 d92
	215457 311656	散发	8	(5.20)	M	28	O157:HNM
グループ 1			6.9	M	5	O157:HNM	1+2 d66
			(6.17)	M	42	O157:HNM	1+2 d66
			(6.17)	F	39	O157:HNM	1+2 d66
			(6.18)	F	14	O157:HNM	1+2 d67 ^{b)}
			(6.19)	F	10	O157:HNM	1+2 d66
		散发	14	6.15	M	60	O157:HNM
317577 611757	散发	20	7.4	F	22	O157:H7	1+2 d146
	散发	40	8.21	M	15	O157:H7	1+2 d266
	散发	53	9.2	F	40	O157:H7	1+2 d483
	散发	34	8.8	M	17	O157:H7	1+2 d263
717577 611457	散发	45	8.17	M	19	O157:H7	1+2 d263
	散发	64	不明	M	3	O157:H7	1+2 d496
	散发	7	(4.9)	F	2	O157:H7	1+2 d20
317577 211756	散发	51	9.6	F	46	O157:H7	1+2 c684

a) カッコ内は無症状保菌者の検体採取日

b) d66と1本異なる

表9 *Campylobacter jejuni* の PFGE 画像解析における配布株の近似度と認識バンド数

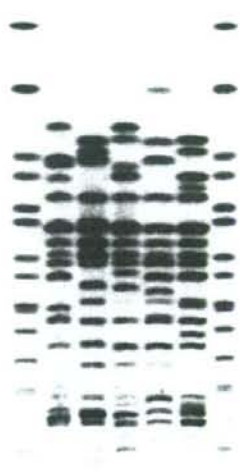
菌株番号	制限酵素	認識バンド数(本)	トレランス1.2%		トレランス2.0%	
			100%一致画像数 ^{a)}	近似度 (%)	100%一致画像数	近似度 (%)
6	<i>Sma</i> I	9	6 (9)	84.7	7 (9)	100
	<i>Kpn</i> I	13, 14, 15	2 (13)	73.9	2 (13), 2 (14)	92.0
7	<i>Sma</i> I	7, 8	3 (8), 2 (7)	73.7	4 (8), 3 (7)	93.3
	<i>Kpn</i> I	11, 12, 14	2 (12), 2 (14)	79.3	2 (12), 3 (14)	88.8

a) カッコ内は認識バンド数

施設 1 (19 時間)



施設 2 (17 時間)



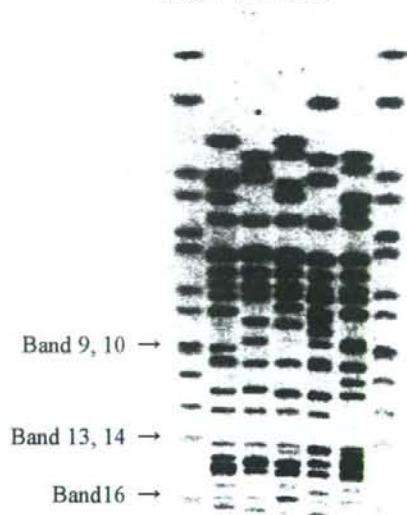
施設 3 (17.5 時間)



左から

- 1 Marker
- 2 菌株 1
- 3 菌株 2
- 4 菌株 3
- 5 菌株 4
- 6 菌株 5
- 7 Marker

施設 4 (19 時間)



施設 5 (19 時間)

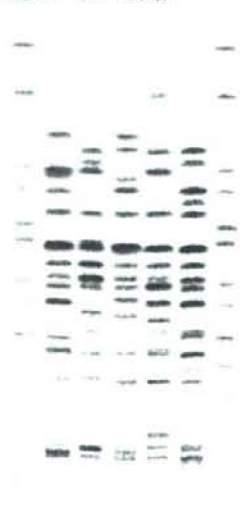


図 1 EHEC O157 精度管理株の PFGE—各施設の画像 (カッコ内は泳動時間)

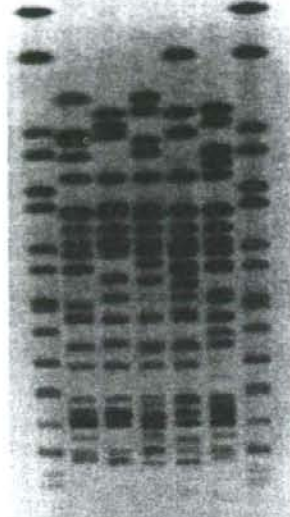
施設 6 (19 時間)



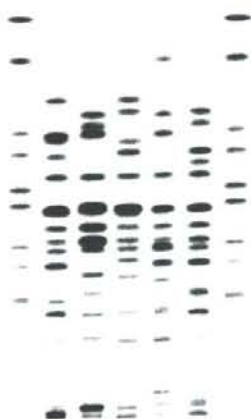
施設 7 (19 時間)



施設 8 (19.5 時間)



施設 9 (19 時間)



施設 10 (19 時間)



施設 11 (19 時間)



図 1 EHEC O157 精度管理株の PFGE—各施設の画像 (つづき)

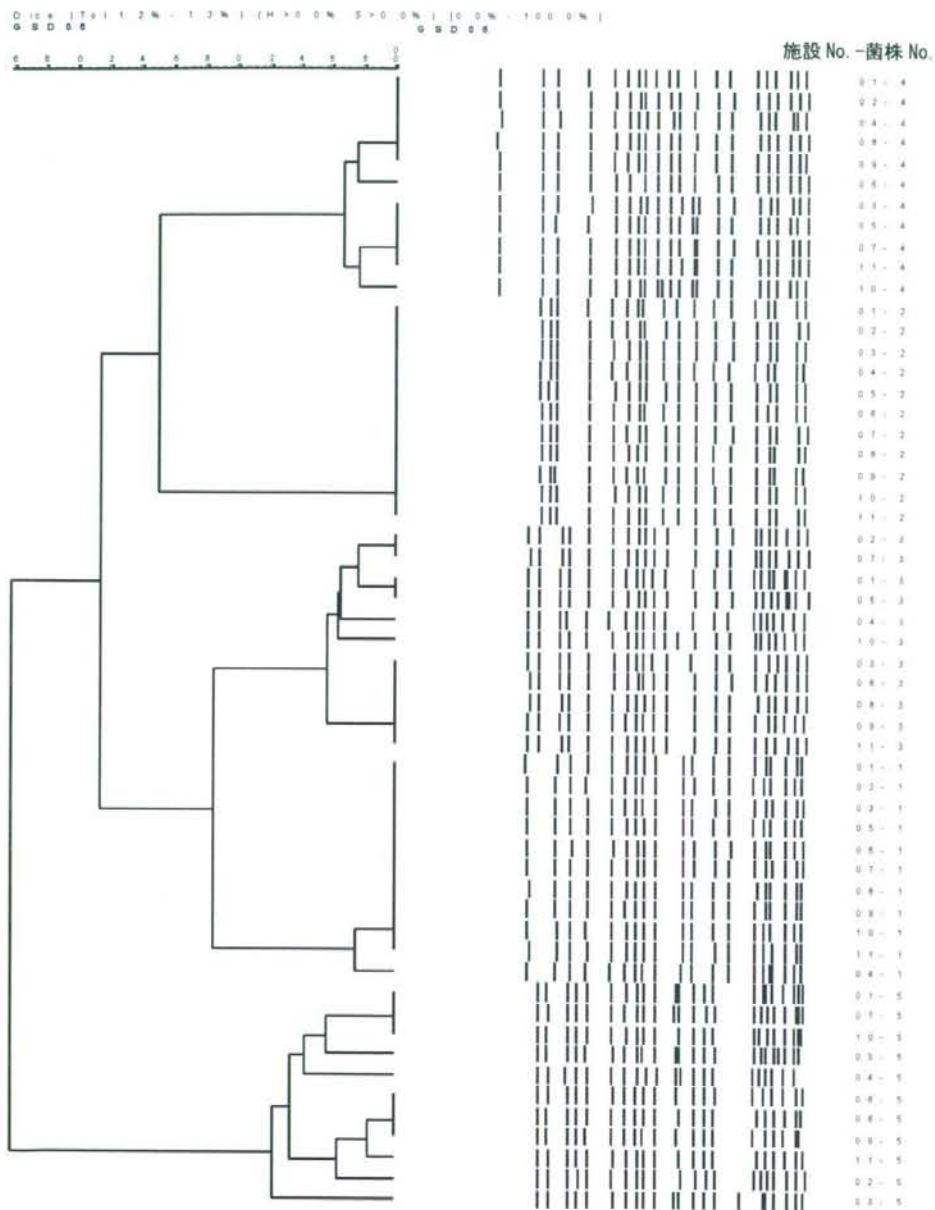


図2 A 解析者作成 EHEC O157 精度管理株のデンドログラム

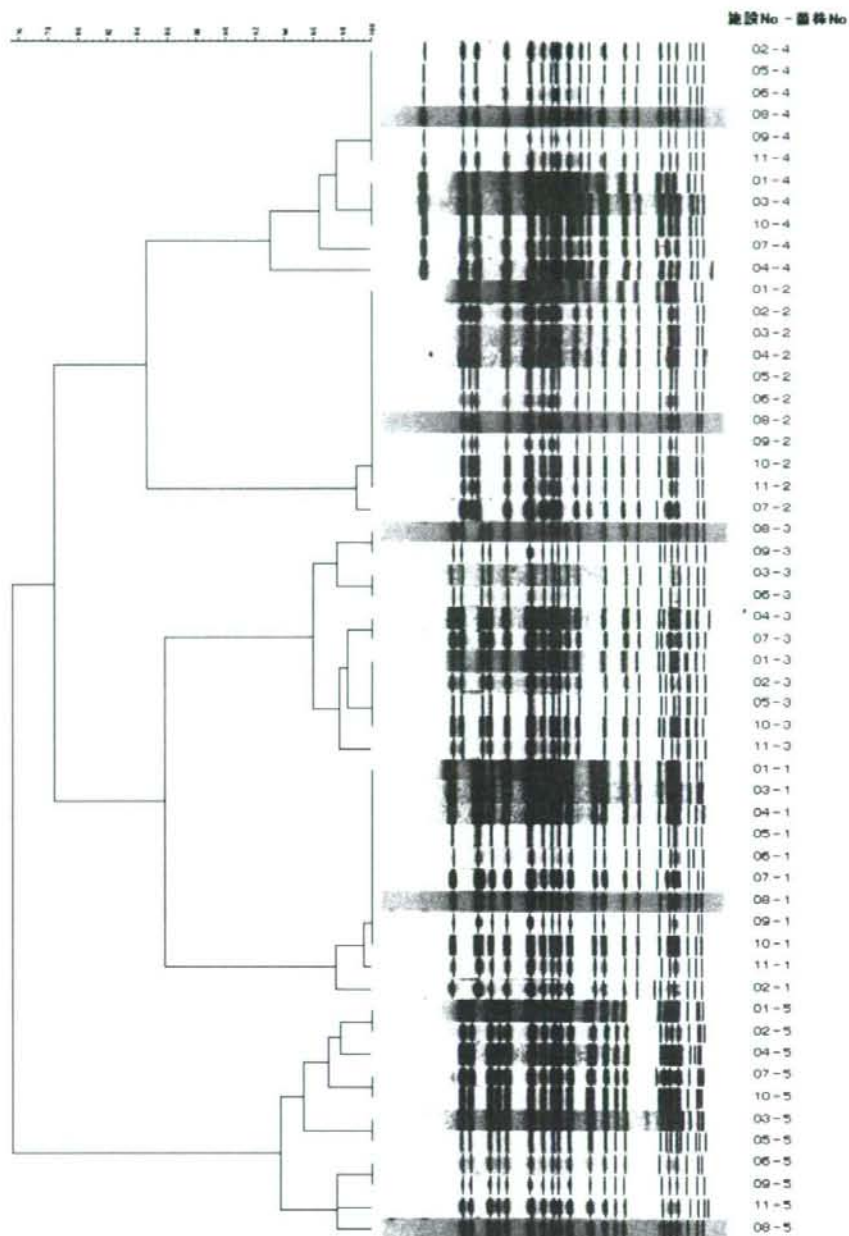


図3 B析者作成 EHEC O157 精度管理株のデンドログラム

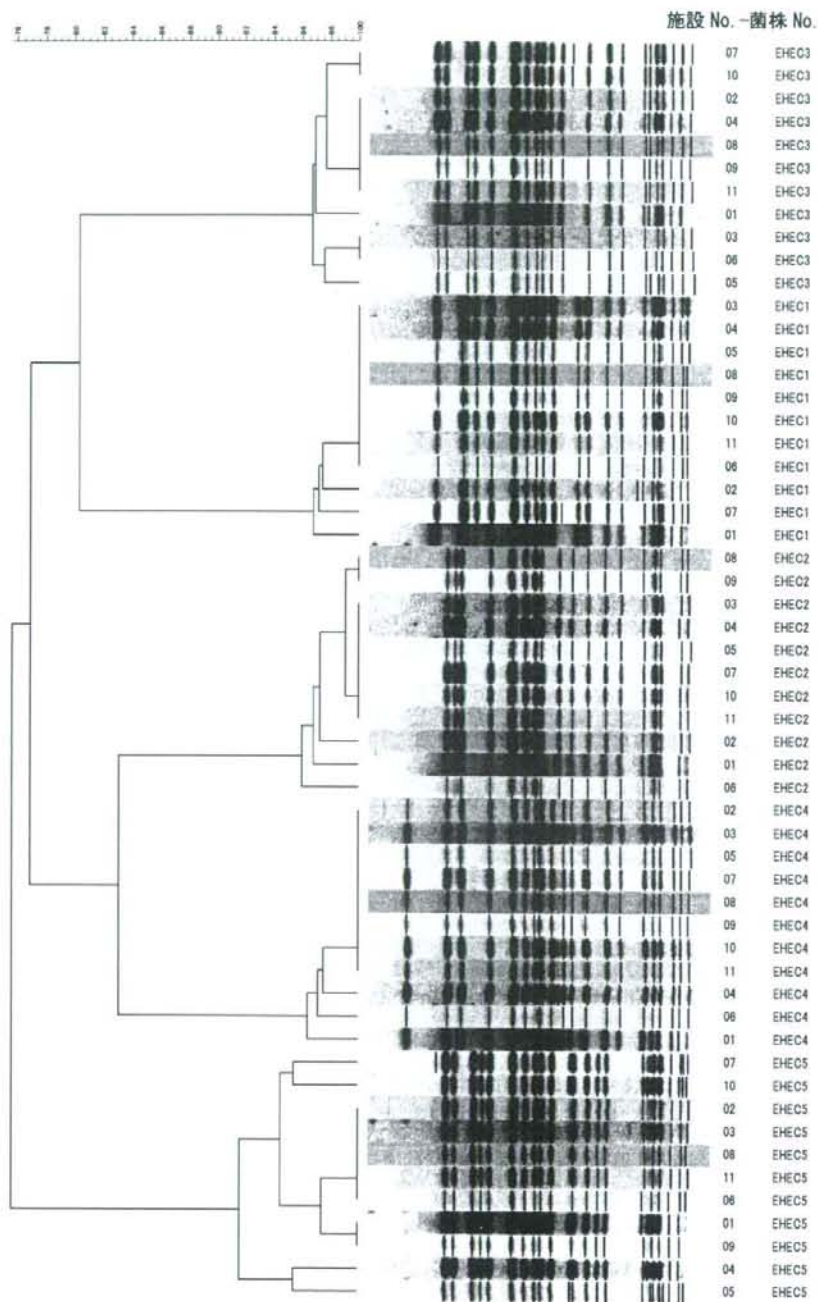


図4 C析者作成 EHEC O157 精度管理株のデンドログラム

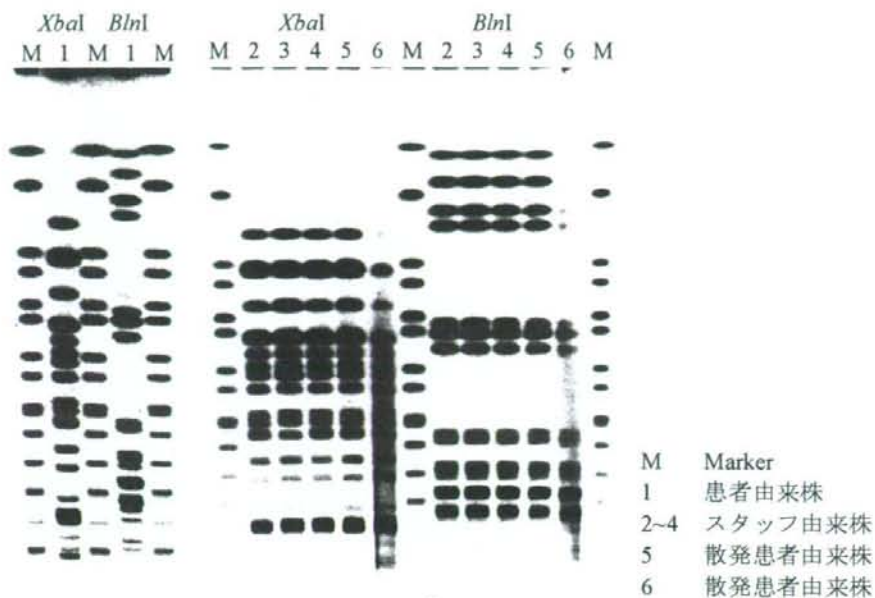


図5 電送による EHEC O157 PFGE 画像の比較

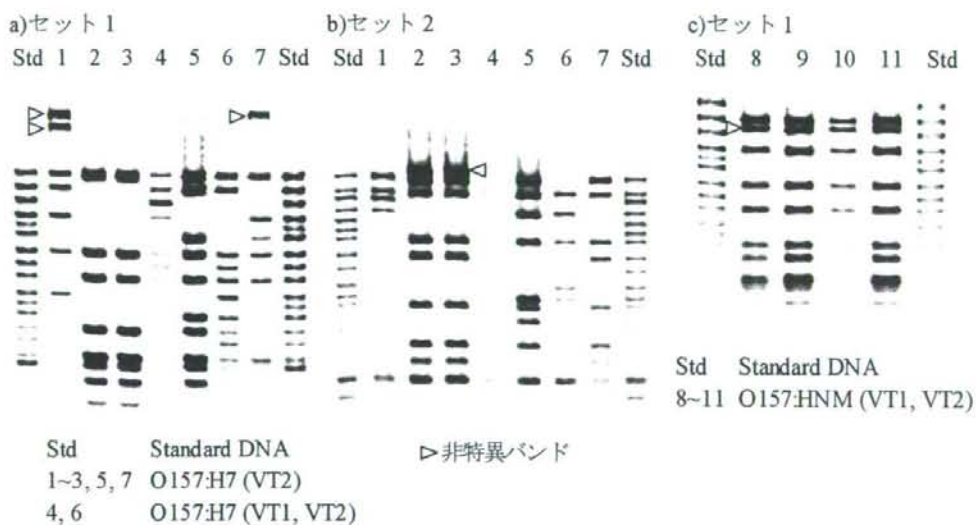
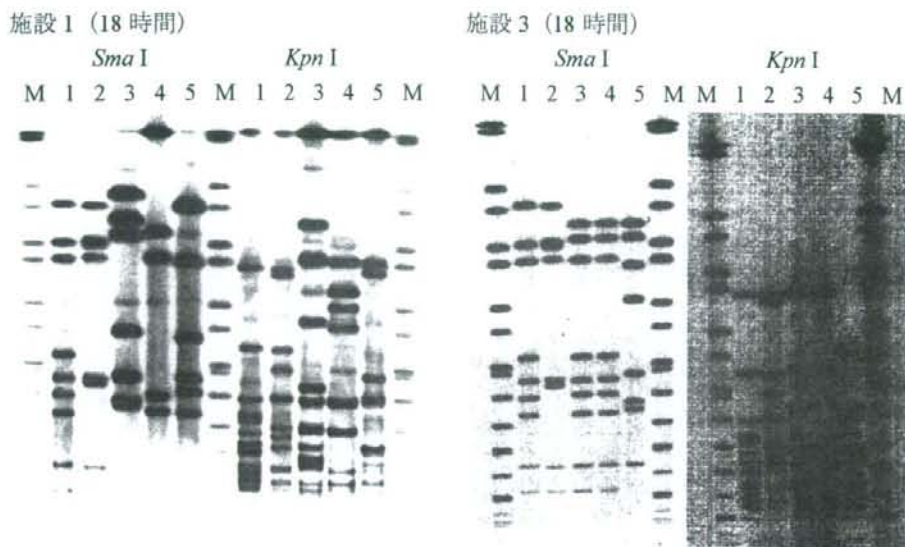


図6 EHEC O157 IS-printing System の電気泳動像



- M Marker
 1 菌株 6
 2 菌株 7
 3 各施設株(菌株 8)
 4 各施設株(菌株 9)
 5 各施設株(菌株 10)

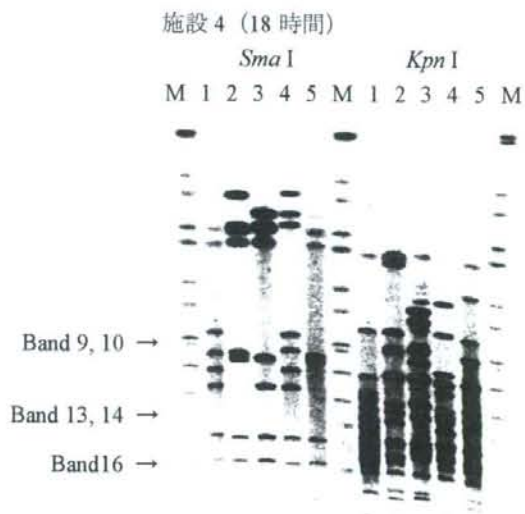
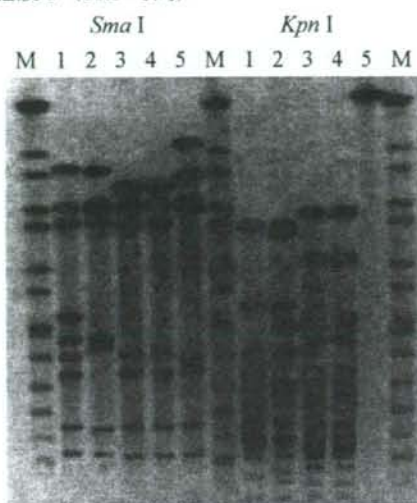
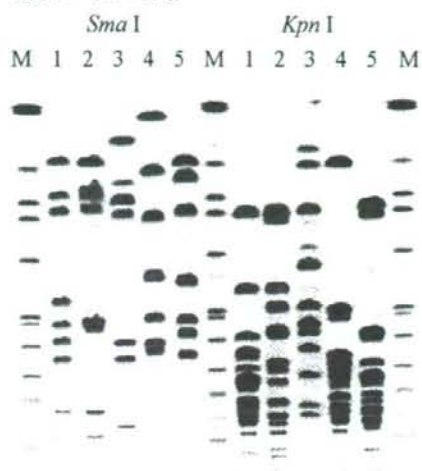


図 7 *Campylobacter jejuni* の PFGE 画像 (カッコ内は泳動時間)

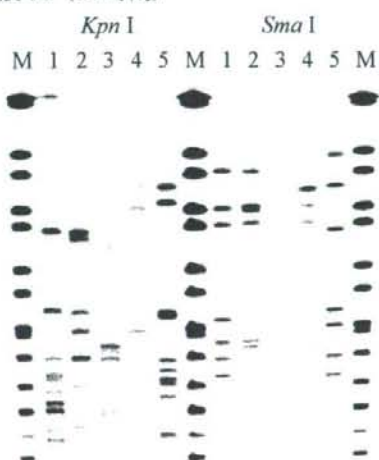
施設 8 (18.5 時間)



施設 9 (18 時間)



施設 10 (18 時間)



施設 11 (18 時間)

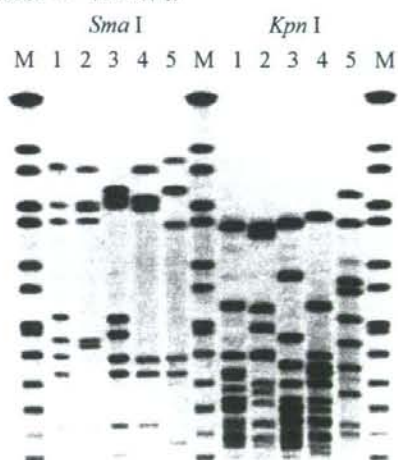


図 7 *Campylobacter jejuni* の PFGE 画像 (つづき)

a) トレランス 1.2%

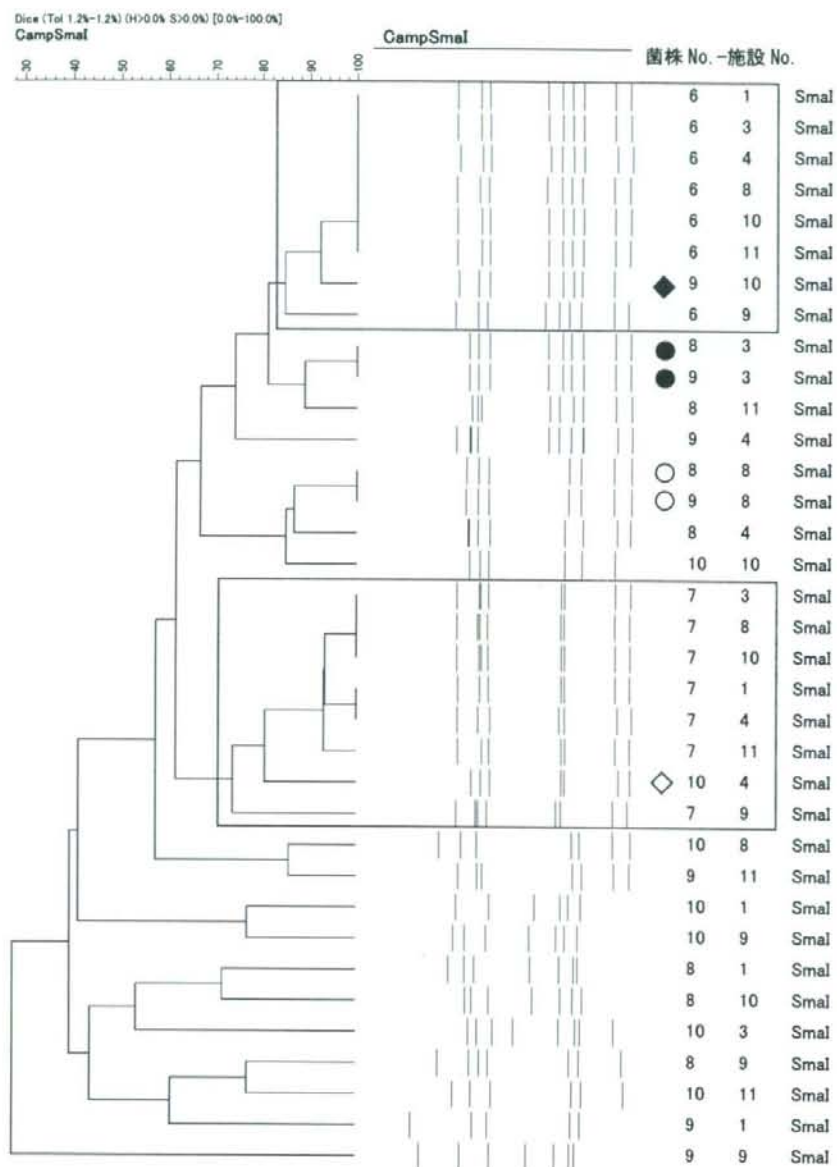


図 8 A 解析者作成 *C. jejuni* のデンドログラム -SmaI 切断

b) トレランス 2.0%

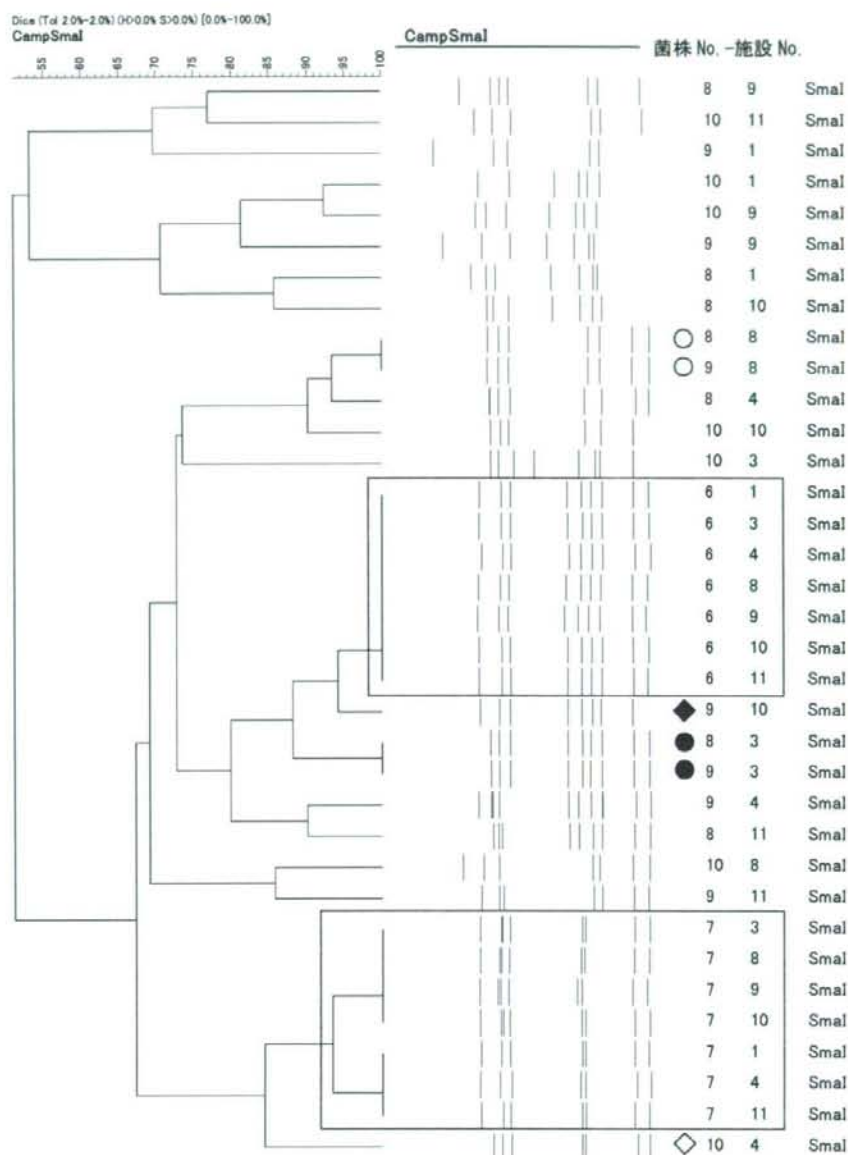


図8 A 解析者作成 *C. jejuni* のデンドログラム -SmaI 切断 (つづき)

a) トレランス 1.2%

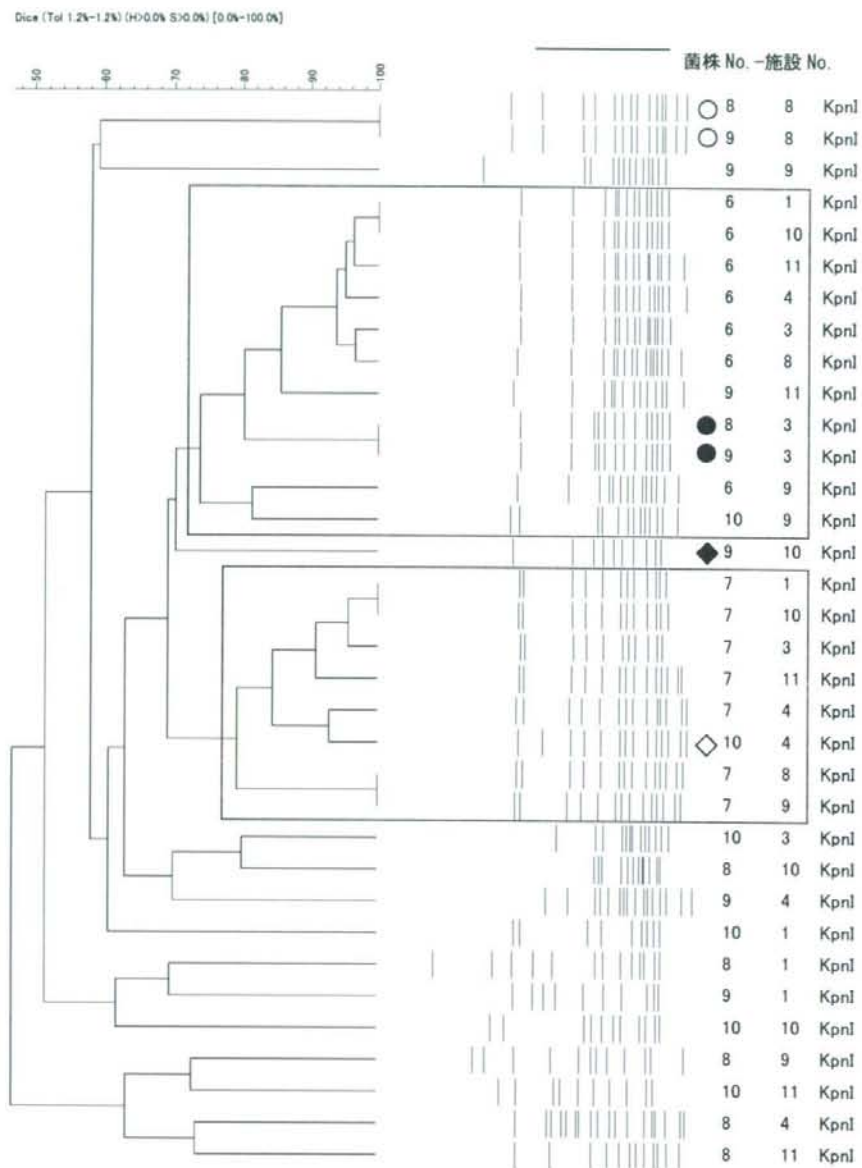


図9 A 解析者作成 *C. jejuni* のデンドログラム -*KpnI* 切断

b) トレランス 2.0%

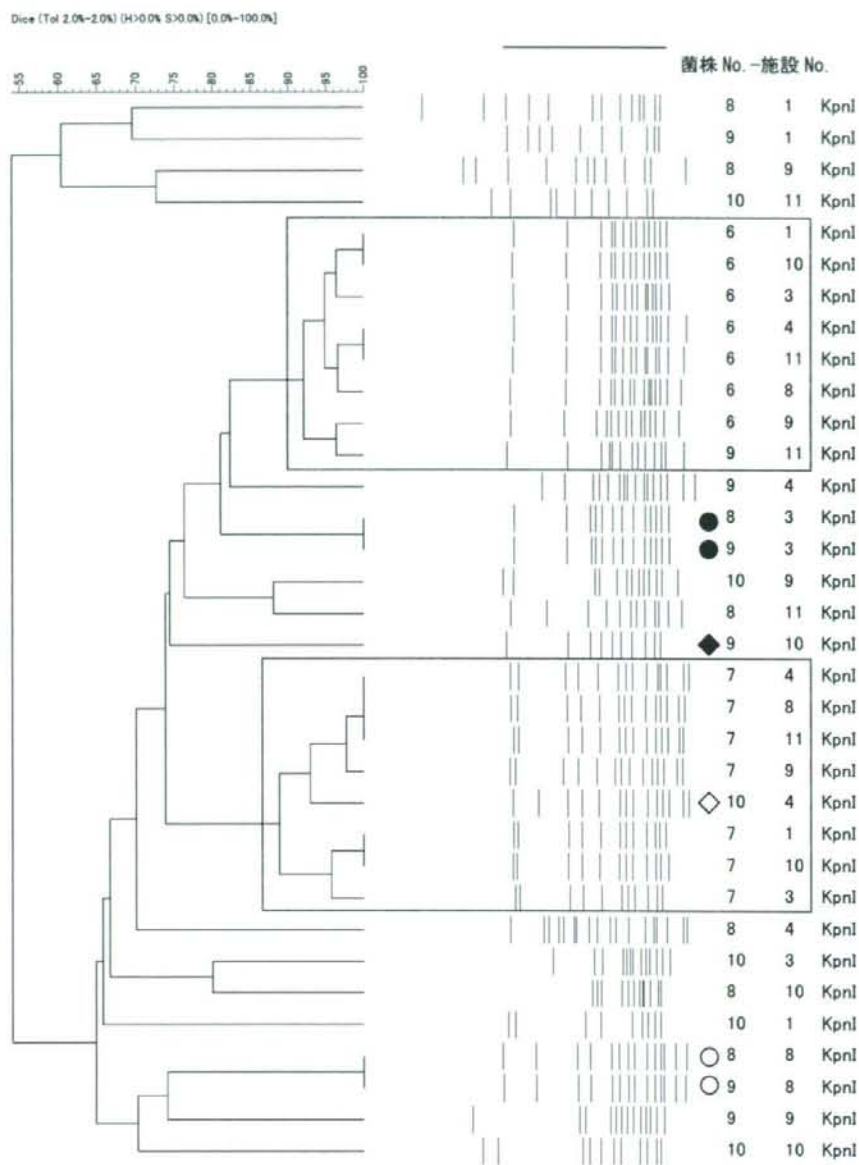


図9 A 解析者作成 *C. jejuni* のデンドログラム -*KpnI* 切断 (つづき)

厚生労働科学研究費補助金（新興・再興感染症研究事業）

平成 20 年度分担研究報告書

サルモネラ・エンテリティディスによる食中毒事例（奈良県）

研究協力者	榮井 毅	奈良県保健環境研究センター
研究協力者	田邊 純子	奈良県保健環境研究センター
研究協力者	橋田みさを	奈良県保健環境研究センター
研究協力者	大前 壽子	奈良県保健環境研究センター

研究要旨

2008 年 8 月に奈良県内のグループホームの夏祭りで提供された飲食物が原因と考えられる集団食中毒事例が発生した。糞便検査の結果、患者（医療検便を含む）および調理従事者のうち 4 名からサルモネラ・エンテリティディス（SE）が分離されたほか、残食のちらし寿司から SE が分離された。これらの菌株について、制限酵素 *BlnI* を用いたパルスフィールド電気泳動（PFGE）を実施したところ、同じ PFGE パターンを示し、SE に汚染されたちらし寿司（錦糸卵）が集団食中毒の原因であることを強く示唆する結果が得られた。

A. 研究目的

グループホームの夏祭りに関連して発生した集団食中毒で、患者および調理従事者 4 名と残食（ちらし寿司）からサルモネラ・エンテリティディス（SE）が分離された。菌株の関連性を確認するために PFGE 解析を実施した。また、近い時期（6-7 月）に起きた食中毒事例（2 事例）に関連して当センターが分離または入手した SE 菌株について同時に検討を行った。

B. 研究方法

1. SE の分離

糞便の食中毒検査のうち、サルモネラの直接分離培養は、SS エクストラ（関東化学）および DHL 選択平板を使用し、増菌培養はセレ

ナイト・シスチン培地で一夜培養後、SS エクストラにより分離培養を行った。

食品および拭き取り検体は緩衝ペプトン水で前増菌後、ハーナ・テトラチオン酸塩培地で選択増菌し、MLCB および SMID 選択平板により分離培養を行った。

2. PFGE 法

平成 15 年度に示された感染研新プロトコルを用い、供試菌株を制限酵素 *BlnI* で 37°C 2 時間消化後、Gene Path System（Bio-Rad）を使用し、1% SeaKem Gold Agarose（タカラ）、電圧 6V/cm、スイッチタイム 2.2- 63.8 秒で 19 時間電気泳動を行った。サイズマーカーは、*Salmonella* Braenderup H9812 PulseNet Standard Strain の *XbaI* 切断を使用した。

3. 薬剤感受性試験

CLSI のディスク感受性試験実施基準にしたがい、センシディスク（日本ベクトン・ディッキンソン）を使用して実施した。供試薬剤は、アンピシリン（ABPC）、ストレプトマイシン（SM）、テトラサイクリン（TC）、カナマイシン（KM）、ゲンタマイシン（GM）、クロラムフェニコール（CP）、ST 合剤（ST）、ホスホマイシン（FOM）、セフトキシム（CTX）、ナリジクス酸（NA）、シプロフロキサシン（CPFX）の11剤である。

C. 研究結果

1. 事例の概要

2008年8月4日、グループホームの夏祭りのあと食中毒様症状を呈している者がいる旨の匿名の通報により、県内保健所が調査したところ、約100名が参加した夏祭り患者16名が下痢、腹痛、発熱（37～40℃）、吐き気等を発症していることがわかった。また、夏祭りの食事（ちらし寿司、たこ焼き、焼きそばなど）は、依頼を受けた近隣の飲食店が提供したものであった。

患者便5検体と従事者便4検体のうち1検体からSEを検出するとともに、残食のちらし寿司およびその錦糸卵のそれぞれから同菌を検出した。また、医療検便5検体のうち3検体からSEが分離され、菌株として搬入された。

2. PFGE 解析と薬剤感受性試験

患者、従事者由来株4株と残食由来株1株はPFGEパターンが一致した。また、近い時期（6～7月）に起きた食中毒事例（2事例5株）に関連して当センターが分離または入手した菌株5株を同時に泳動したところ、1事例（1株）の菌株が今回の事例と同じPFGE

パターンを示した（図）。

薬剤感受性については、今回の事例の5株、近い時期に起きた食中毒2事例5株とも、すべての薬剤に感受性を示した。

D. 考察

サルモネラ属菌による集団食中毒は、細菌性集団食中毒全体において事件数・患者数の上位を占めており、特にSEによるものが多い。分離したSEの菌株について、生化学的性状試験や薬剤感受性試験を実施しても、菌株の起源に関係なく同じ結果になることが通常であり、菌株の比較にはPFGEによる遺伝子解析やファージ型別が必要である。今回PFGEを実施することで、菌株の起源に関する情報を得ることができた。

なお、PFGEを実施した菌株のファージ型別結果は、今回の集団食中毒に関する5株と、同じPFGEパターンを示した他の1事例1株が同じ14bであり、PFGEパターンが一致しなかった1事例4株は別のファージ型であった。そのことから、PFGEパターンおよびファージ型が一致した事例間に関連性がある可能性が示唆された。

ファージ型別試験をしていただいた、国立感染症研究所 細菌第一部 泉谷秀昌先生に深謝いたします。

E. 結論

奈良県内のグループホームの夏祭りに関連して集団食中毒が発生し、4人と残食からSEが分離された。これらの菌株について、生化学的性状試験や薬剤感受性試験に加え、PFGEによる遺伝子解析を実施し、菌株が同一起源である可能性が高いことを明らかにすることができた。

F.健康危険情報

なし

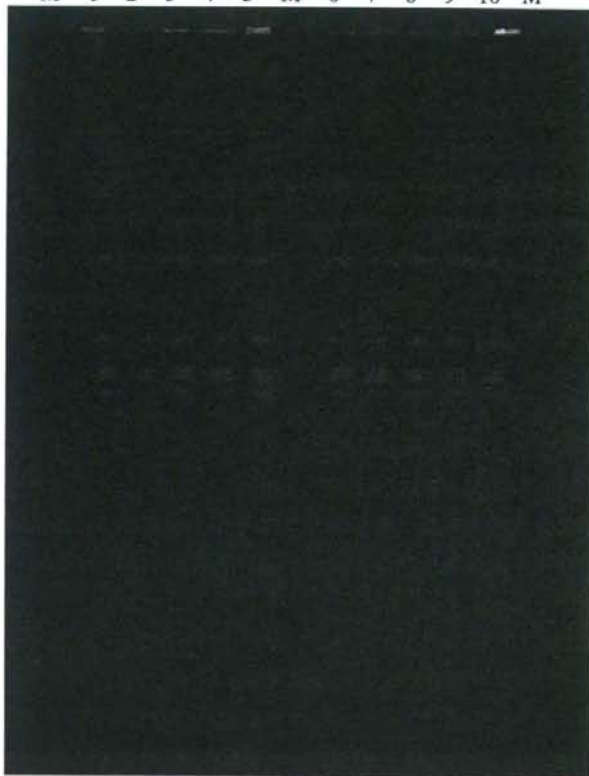
なし

H.知的財産権の出願・登録状況

なし

G.研究発表

M 1 2 3 4 5 M 6 7 8 9 10 M



M : *S. Braenderup* H9812

1 ~ 4 : 他の事例 (奈良県内)

5 : 他の事例 (近隣府県)

6 ~ 10 : 当該事例

図 サルモネラ・エンテリティディス株の PFGE パターン

厚生労働科学研究費補助金（新興・再興感染症研究事業）
平成 20 年度分担研究報告

飲食チェーン店で発生した *Salmonella* Montevideo 食中毒事件

研究協力者	田口真澄	大阪府立公衆衛生研究所
研究協力者	井上 清	大阪府立公衆衛生研究所
研究分担者	勢戸和子	大阪府立公衆衛生研究所

研究要旨

2007 年 9 月に近畿地区で広域に発生した飲食チェーン店を原因施設とする *Salmonella* Montevideo 食中毒事件について、発生原因究明のため PFGE 解析を行った。PFGE パターンは、患者および従業員由来株はすべて同一であった。本事件では各店舗当たりの患者数が少なく、無症状の従業員からの菌検出が多いという特徴が認められた。本事件発生以後にも同一の PFGE パターンを示す菌が散発保菌者から分離されており、保菌者からの 2 次汚染を防止するためにも、*S. Montevideo* の動向を監視し、汚染源を明らかにする必要があると考えられる。

A. 研究目的

2007 年 9 月に近畿地区で広域に発生した、飲食チェーン店を原因施設とする *S. Montevideo* 食中毒事件について、発生原因究明のため PFGE 解析を行った。

B. 研究方法

菌株の解析は、患者および従業員から分離された *S. Montevideo* の 33 株について、パルスフィールド・ゲル電気泳動 (PFGE) による遺伝子解析と 12 薬剤 (ABPC、SM、TC、CTX、KM、CPFX、OFLX、CP、ST、GM、NA、FOM) に対する薬剤感受性試験を行った。さらに 2007 年に分離された本事件以外の 4 株 (散発保菌者由来 3 株および 8 月発生食中毒事件 1 株) についても比較のため解析を行った。

C. 研究結果

1. 事件の概要

2007 年 9 月 12 日に、神戸市から 9 月 7 日の飲食店料理によるサルモネラ食中毒事件の報道提供があった。その後 9 月 14 日になって、大阪府内の医療機関から下痢・発熱・腹痛で受診した患者からサルモネラを検出したと保健所に通報があり、調査した結果、神戸市の事件と同系列の飲食店を 9 月 7 日に利用していたことが判明した。この飲食チェーン店は同一営業者が近畿地区で 28 店舗展開しており、さらに他の店舗からも患者発生報告が相次ぎ、9 月 19 日現在で 18 店舗 57 名に達した。患者から検出されたサルモネラは全て *S. Montevideo* であり、13 店舗に 1-3 日間の営業停止が命じられた。表 1 に行政処分を受けた 13

店舗の患者発生状況を示す。また、営業者の自主検査で10店舗16名の従業員から *S. Montevideo* が検出された。

2. 菌株解析成績

PFGE パターンは、患者および従業員由来株はすべて同一であった。10月に分離された散発保菌者由来株2株も本事件関連株と同一であったが、関連を調べることは出来なかった。事件以前の6月の散発保菌者由来株と8月の食中毒事件由来株は異なっていた(図1)。薬剤感受性試験は全て感受性であった。

D. 考察

喫食調査から原因食品は刺身、寿司の可能性が高いと考えられた。各店舗では大阪府内の配送センターから出荷された食材を使用して調理を行っていた。配送センターではマグロの解体・小分けを行い各店舗に出荷していたが、その他の食材は仕入れ品を包装されたまま各店舗に配送しており、加工品の製造等はしていなかった。またマグロを他県の加工業者から仕入れていた店舗においても患者発生があり、配送センターが汚染の原因であるとの断定はできなかった。16名の従業員から *S. Montevideo* が検出されたが、店の賄い食を喫食していない人もあり、原因は不明である。

本事件は、配送センターから各店舗に配送された食材のいずれかが *S. Montevideo* に汚染されていて、それを各店舗で提供したことにより発生したものと考えられる。また、各店舗当たりの患者数が少なく、無症状の従業員からの菌検出が多いという特徴が認められた。

E. 結論

本事件以後にも同一のPFGEパターンを示す菌が散発保菌者から分離されており、保菌者からの2次汚染を防止するためにも、本血清型の動向を監視し、汚染源を明らかにする必要があると考えられる。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

田口真澄, 坂田淳子, 神吉政史, 勢戸和子, 河合高生, 川津健太郎, 山崎 渉, 依田知子, 浅尾 努, 濱野米一, 井上 清: 飲食チェーン店で発生した *Salmonella Montevideo* 食中毒事件- 大阪府, 病原微生物検出情報, 29:221-222, 2008

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

表1 行政処分を受けた13店舗の患者発生状況

店舗	患者発生グループ					
	利用日	グループ数	摂食者数	患者数	主症状	S. Montevideo 検出者数
A店	8,11,12	5	24	9	腹痛、下痢、 発熱、頭痛	3
B店	7	1	5	3	下痢、腹痛、 嘔気、発熱	3
C店	7,11	2	9	2	腹痛、下痢、 嘔気、発熱	2
D店	7,8	3	8	8	下痢、腹痛、 発熱	3
E店	7	2	10	7	下痢、腹痛、 発熱、悪寒	1
F店	12,13	2	5	1**	腹痛、下痢、 嘔気	1
G店	7,11	4	15	7	腹痛、下痢、 発熱、悪寒	3
7店舗合計		19	76	37		16
大阪府以外 6店舗合計	7,8,9,12	18	84	37		21
合計		37	160	74		37

*大阪市、堺市、東大阪市、高槻市を除く

** (同一人が2日摂食)

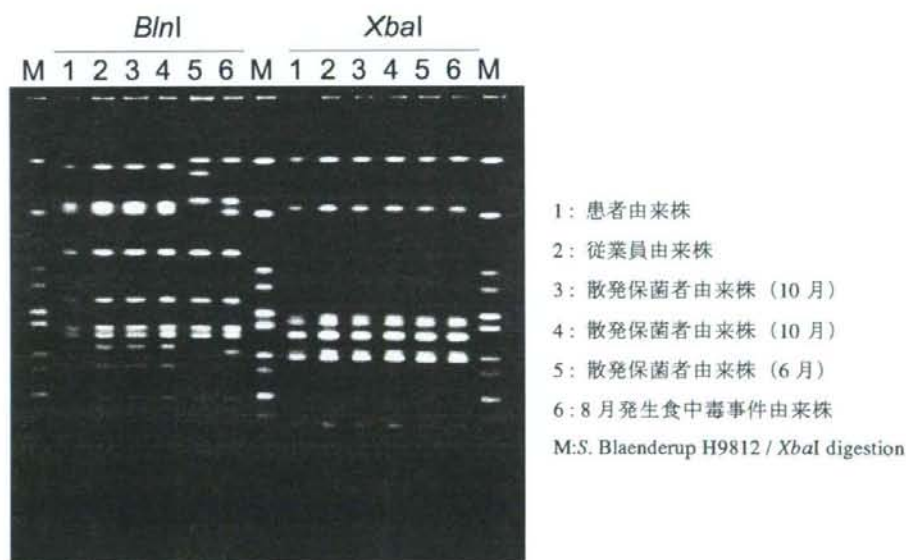


図1 S. Montevideo の PFGE パターン